

## Brassicinae亜連の類縁関係と分化に関する研究

著者	高畑 義人
号	237
発行年	1982
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/17024">http://hdl.handle.net/10097/17024</a>

氏 名 (本籍)            たか            はた            よし            ひと  
                                 高            畑            義            人

学 位 の 種 類            農            学            博            士

学 位 記 番 号            農            第            2 3 7            号

学位授与年月日            昭和 5 8 年   3   月   1 0   日

学位授与の要件            学位規則第 5 条第 2 項該当

学位論文題目            *Brassicinae* 亜連の類縁関係と分化  
                                 に関する研究

論文審査委員 (主 査)

教授   角田重三郎            教授   高 橋 成 人

   助教授   日 向 康 吉

# 論文内容要旨

## 序 言

アブラナ科植物は古くから人々に利用され、現在28属が作物として世界中で栽培されている。その中でも、特にアブラナ属 (*Brassica*) に含まれる6種 (*B. nigra*, *B. oleracea*, *B. campestris*, *B. carinata*, *B. juncea*, *B. napus*) は、油料、野菜、飼料、香辛料、薬用として経済的に重要な作物となっている。これら栽培種の近縁野生種属は、栽培種を将来品種改良していく際の貴重な遺伝子源として重要な価値をもつものである。そして、その際には各種間の類縁関係を明らかにしておくことが必要である。本研究はアブラナ属とその近縁属植物の類縁関係と分化を探るために、*Brassicinae* 亜連62種 136系統を用い、細胞遺伝学、数量形態学、アイソザイム分析の異なった3つの手法をもって検討し、さらにそれら3つの異なった手法からみた時の類縁関係や分化の程度の差異について比較検討した。また、本種属の植物には乾燥地や海岸に適応しているものが多いことから、材料の一部について耐塩性を調査し、生理生態的分化ならびに野生種のもつ耐塩性の機構についても考察を加えたものである。

### 1. *Brassicinae* 亜連の細胞遺伝学的類縁関係

染色体数の調査により、新たに11種の染色体数が決定された。細胞遺伝学および形態的観察から、それらの中で1種3亜種は既存のサイトデーム (cytodeme) に属することが判明し、7種は新サイトデームであることが推察された。すなわち、*B. desnottesii* ( $n=10$ ) は *Brassicaria* サイトデームに、*B. fruticulosa* ssp. *mauritanica* ( $n=16$ ) と同 ssp. *radicata* ( $n=16$ ) は *B. cossoneana* サイトデームに、*Eruastrum laevigatum* ssp. *glabrum* ( $n=8$ ) は *B. fruticulosa* サイトデームに属し、*B. deflexa* ( $n=7$ )、*B. gravinae* ( $n=20$ )、*Diplotaxis berthautii* ( $n=9$ )、*D. siettiana* ( $n=8$ )、*Es. strigosum* ( $n=8$ )、*Es. varium* ( $n=7$ )、*Sinapis aucheri* ( $n=7$ ) の7種は新サイトデームであると思われた。これにより *Brassicinae* 亜連については40の2倍体サイトデームと11の4倍体サイトデームが現在まで見出された (図1)。次に、サイトデーム内およびサイトデーム間の種間交雑を行ない、雑種の細胞遺伝学的観察を行なった。サイトデーム内の種間雑種はほとんど正常な減数分裂を行なったが、I価染色体の出現頻度が高く花粉稔性の低い組み合わせ (*B. spinescens* と他の *B. fruticulosa* サイトデームの種間など) もみられ、それらは形態的、生態的分化とともに核学的分化も起こりつつあるものと推察された。一方、15のサイトデーム間種間雑種が得られ、その中の11はこれまでに報告のなかった種の組み合わせであった。いずれの雑種にもある程度のII価染色体が観察され、染色体の部分相同性の存在が確かめられた。

### 2. 数量形態からみた *Brassicinae* 亜連の分化と類縁関係

各系統の種子、子葉、花器、果実の33の数量形質 (実測値) と20の相対値を調査し、数量分類学の手法を用い分化と類縁関係について検討した。30個の実測値を用いた主成分分析法から、*Brassicinae* 亜連は第一に「一般的な大きさ (size factor)」について分化し、第二に「雌ずい、果実の形および一果実内種子数」について分化していることが明らかとなった (図2、図3)。第一の分化については *Brassica* 属の変異が大きく、また栽培種と野生種の分化とも関連していた。第二の分化については *Diplotaxis* 属の変異が大きかった。これら2つの分化は各植物の生態的地位や適応戦略とも関連

し、種子等の大きい *Brassica* 属栽培種、*Eruca* 属、*Hutera* 属、*Sinapis* 属は適潤地に生育するK-戦略の植物、多数の種子を生産する *Diplotaxis* 属、*Erucastrum* 属の一部の種は乾燥する open な場所に生育する r-戦略の植物であった。また、この2つの分化の方向（第1、第2主成分）における各系統の散布図は、同一種、同一サイトデームがまとまり、複二倍体種が両親の中間に位置するなど、種の類縁関係を比較的良く示していた。さらに詳細に種間の類縁関係をみるために、53の数量形質を用い各属ごとにクラスター分析を行ない、また *Brassicinae* 亜連各種間のユークリッド距離を求め検討した。*Brassica* 属は6群に分れた（図4、6群をB-1～B-6群とする）。そのうち、B-3～B-6群は細胞遺伝学的証拠を考慮すると近縁なグループで、B-1とB-2群はそれぞれ比較的遠縁であった。その外、*Diplotaxis* 属は4群、*Erucastrum* 属、*Sinapis* 属はそれぞれ2群に分類された。一方、異属間でも同一属内の種間と同程度あるいはそれ以上に類似性が高い場合が認められ、*Brassica* 属、*Diplotaxis* 属、*Erucastrum* 属、*Sinapis* 属の一部の種および *Sinapidendron* 属が互いに高い類似性を示した。これらのグループは図3で中央部に位置する種であり、*Brassicinae* 亜連の種はこれらと類似した形態をもった植物から生態的に適応して分化していったことが推察された。

### 3. *Brassicinae* 亜連の花器形質の変異

#### —花粉粒数とP/Oについて—

各系統の一花当たり花粉粒数、一胚珠当たり花粉粒数（pollen-ovule ratio: P/O）および花の形態を調査し、それらと各種の交配システム、受粉機構、生育地との関係を検討した。花粉粒数は花の大きさと正の相関を示し、また花の形態とも密接な関係を示した。花の形態は3群に分類され、*B. nigra* 型の花は花粉粒数が少なく、*Eruca* 型の花は多量の花粉を生産していた（図5）。媒介動物の誘引要因として、*B. nigra* 型の花は蜜を、*Eruca* 型の花は花粉を主要な誘引物としているのではないかと推察した。P/Oは交配システムと密接な関係を示し、自家和合の自殖性植物がもっとも低く、他殖性植物では属間差があり、 $Diplotaxis \leq Erucastrum = Sinapidendron \leq Brassica = Hirschfeldia \leq Sinapis \leq Eruca \leq Hutera$  の順で大きくなる傾向にあった（図6）。またP/Oと植物の生育地との関係も認められ、乾燥地等の不安定な環境に生育する種ほどP/Oが低く、山地等の安定した環境に生育する種ほど高くなる傾向にあった。

### 4. パーオキシダーゼ、エステラーゼアイソザイムからみた *Brassicinae* 亜連の類縁関係

パーオキシダーゼとエステラーゼアイソザイムを等電点電気泳動法により分析し、それらのザイモグラムパターンから *Brassica* 属栽培種と *Brassicinae* 亜連各種の類縁関係を検討した。両酵素とも種間変異とともに種内変異が存在し、種特異的バンドはほとんどみられず複雑なザイモグラムパターンを示した。*Brassica* 属栽培種に関しては、両酵素ともAゲノム種とCゲノム種間で共通バンドが多く類似性が高かった。また複二倍体種はほとんど両親と共通のバンドをもつが、親の特異的バンドを欠失しているものや複二倍体種に特異的なバンドをもつものもみられた。数量化理論Ⅲ類を用いて分析すると、パーオキシダーゼの場合が細胞遺伝学的に明らかとなっている種間の類縁性を示した（図7）。*Brassicinae* 亜連の種の類縁性をザイモグラムパターンの類似度を指標として検討した。両酵素個々に分析した場合も、両酵素のザイモグラムパターンを統合して分析した場合も、同一サイトデーム内の種やゲノムの一部を共有する種間で類似度が高く、その他の種間はそれ以下であったが、

一般的に同一属内の種間で高い類似性を示す傾向がみられた（図8）。また属間でも *Brassica* 属の種と *Diplotaxis* 属, *Erucastrum* 属の一部の種および *S. arvensis* はある程度の類似性が認められた。

## 5. 細胞遺伝学, 数量形態学, アイソザイム分析の異なった手法からみた *Brassicinae* 亜連の類縁関係の比較

本研究を含めて現在まで *Brassicinae* 亜連の種の類縁性を検討した手法として, 染色体対合数, 数量形態, アイソザイム, Fraction I タンパクの4つがある。この4つの異なった手法からみた時の *Brassicinae* 亜連の種の類縁関係の比較を行なった。これまでに染色体の対合および F I タンパクの差異が調べられた種の組み合わせ数は限られていたため, F I タンパクを含む場合には9種について15組み合わせ, F I タンパクを含まない場合には26種について40組み合わせの種間の類似度の関係を相関係数を求めて比較した（表1, 表2）。9種15組み合わせの場合は染色体対合数, 数量形態, F I タンパクの間および染色体対合数とアイソザイムの間に1~5%水準で有意な相関が得られ, 26種40組み合わせの場合は染色体対合数, 数量形態, アイソザイムの間で1~5%水準で有意な相関が得られた。この結果, いずれの分野からみた類縁性も似た結果を示すことが明らかとなった。

## 6. アブラナ属および近縁属植物における生理生態的分化

—— 耐塩性に準拠して ——

アブラナ属およびその近縁種属は海岸や乾燥地に適応しているものが多いことから, アブラナ属およびその近縁属植物12種を Arnon の水耕液を基礎培養液として砂耕し, NaCl 無添加区の外, 0.05 M, 0.1MのNaClを添加した区を設け, NaCl添加による葉光合成速度の低下の程度を指標にして, これら植物の耐塩性を比較した。さらに葉の蒸散速度, クロロフィル含量, 水分含量, NaおよびK含量を測定し, 光合成速度との関係を調査した。光合成速度はNaCl添加によりすべての種で低下したが, 低下の程度には種間差異が認められ, 海岸に生育立地をもつ種は低下の程度が軽く, 内陸に生育立地をもつ種は大巾に低下した。光合成速度の低下と他の葉形質との関係を図9, 図10に示した。光合成速度の低下と蒸散速度の低下との間には0.05 M, 0.1 M両区とも1%水準で有意な正相関が認められ, NaCl添加により大巾に光合成速度を低下した種は同時に蒸散速度も大巾に低下した。また0.1 M区で光合成速度の大巾に低下した種は水分含量を増加した（5%水準で有意な負相関）。クロロフィル含量の変化と光合成速度の低下との間には有意な関係は認められなかったが, *B. fruticulosa* サイトデーム内の種や *Sinapis* 属の種においては, 両者間に正の関係がある傾向を示した。NaCl添加により葉Na含量は著しく増加し, 逆にKは減少した。光合成速度の低下と個々のNaまたはK含量の変化との間には有意な相関は認められなかった。しかし, NaCl 0.1 M区でNa + K含量の増加程度の著しい種ほど光合成速度を低下していた（1%水準で有意な負相関）。以上のことを総合すると, 耐NaCl性の弱い種はNaCl添加よりNa - Kを過剰吸収し, それに伴なう浸透圧の増加が葉水分含量の増加をもたらす。しかし, 浸透圧の高圧状態がなお解消できず, 葉の生理的乾燥状態が続いているために, 葉のガス拡散抵抗を高めて蒸散速度を低下させ, それに伴なって光合成速度を低下させたものと推察される。一方, 耐NaCl性の強い種はNa, Kの過剰蓄積を制御する機構があると考えられる。

図1 Brassicaceae 亞連のサイトデーム (cytodeme)

1 ますが1 サイトデームを表わし、左の列から Brassica 属、Diplolaxis 属、Erucastrum 属、その他の属 (Eruca 属、Hirschfeldia 属、

4 倍体については ( ) 内にそれぞれの親の種を示し、 $(4 \times \dots)$  は同質 4 倍体を表わす。

十：本研究で新たに見出されたサイトデーム

※Ⅰ～Ⅱ: 1 サイトデームが2つ以上の種を含む場合で、図の上部にそれらに含まれる種名を記した。  
*B. gravinae* (?) と *D. berthautii* (?) は Harberd (1976) と本研究の結果が異なるため、両方の結果を併記した。

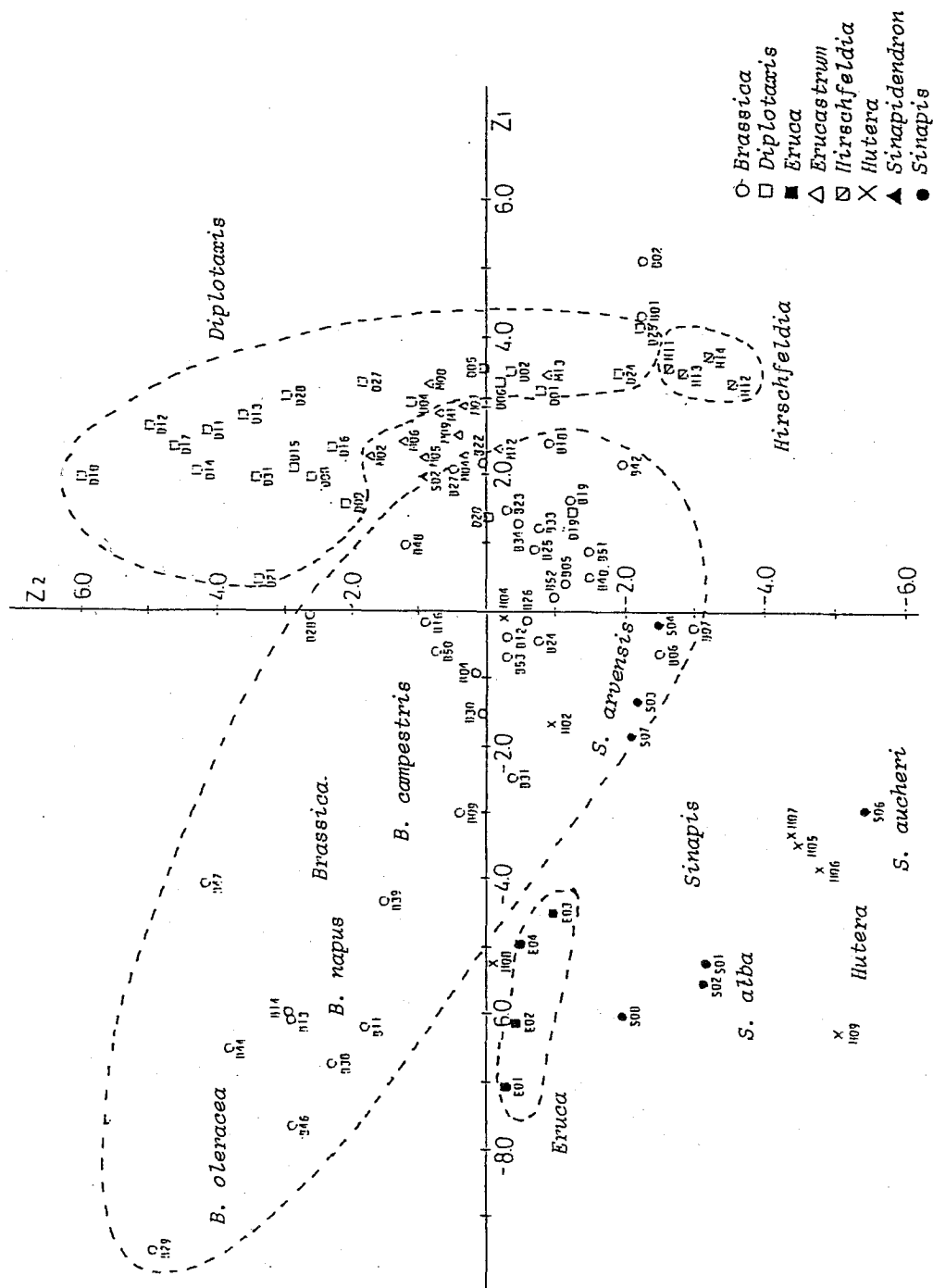


図2 30形質を用いた主成分分析法による *Brassicaceae* 亜連各系統の第1 ( $Z_1$ ), 第2 ( $Z_2$ ) 主成分における散布図

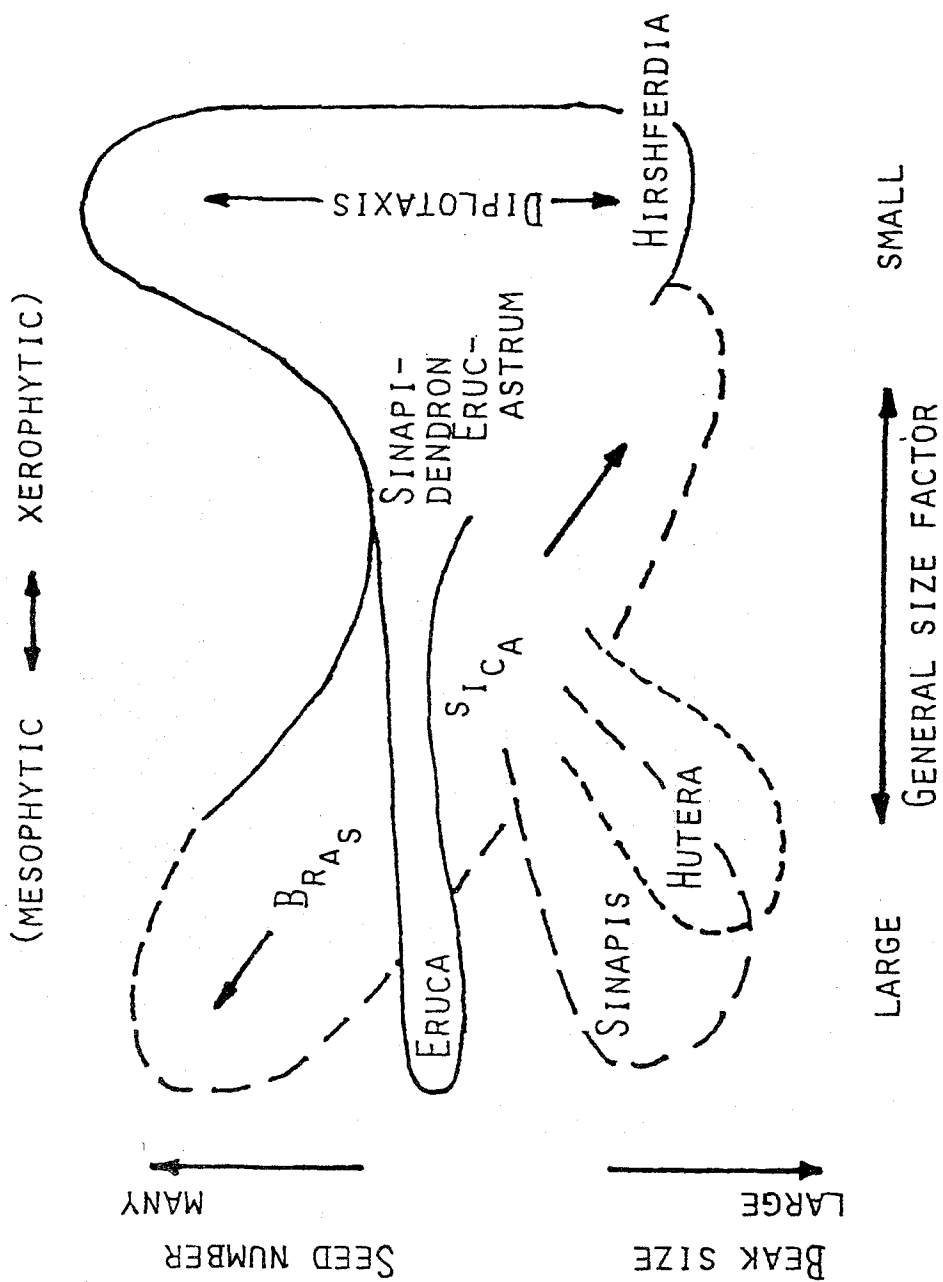


図3 *Brassicaceae* 亜連各属の phenetic な関係  
実線は細長い種子，破線は球形の種子を表わす



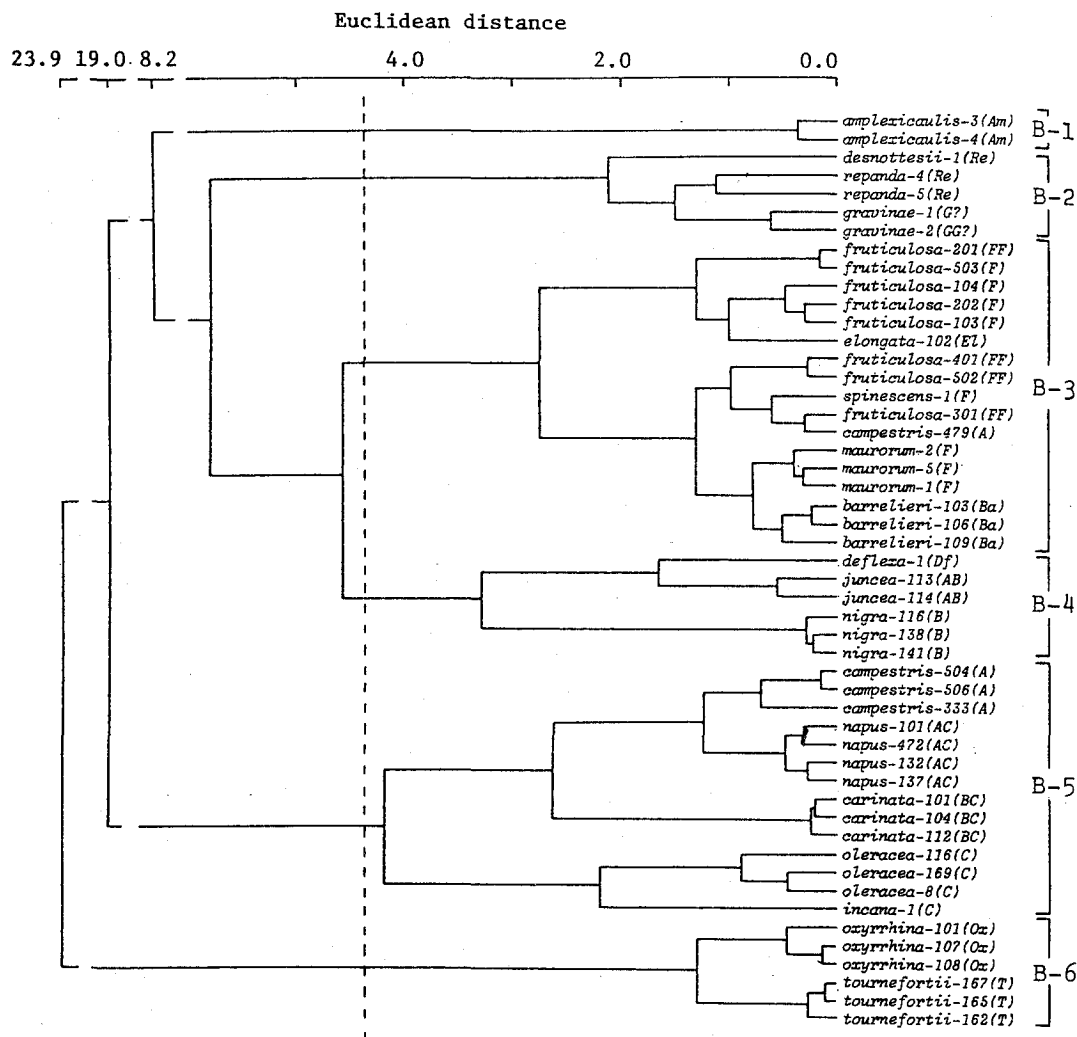


図4 53形質を用いたクラスター分析による *Brassica* 属のデンドログラム  
 ( ): サイトデームの概念に基づいて与えたゲノム記号

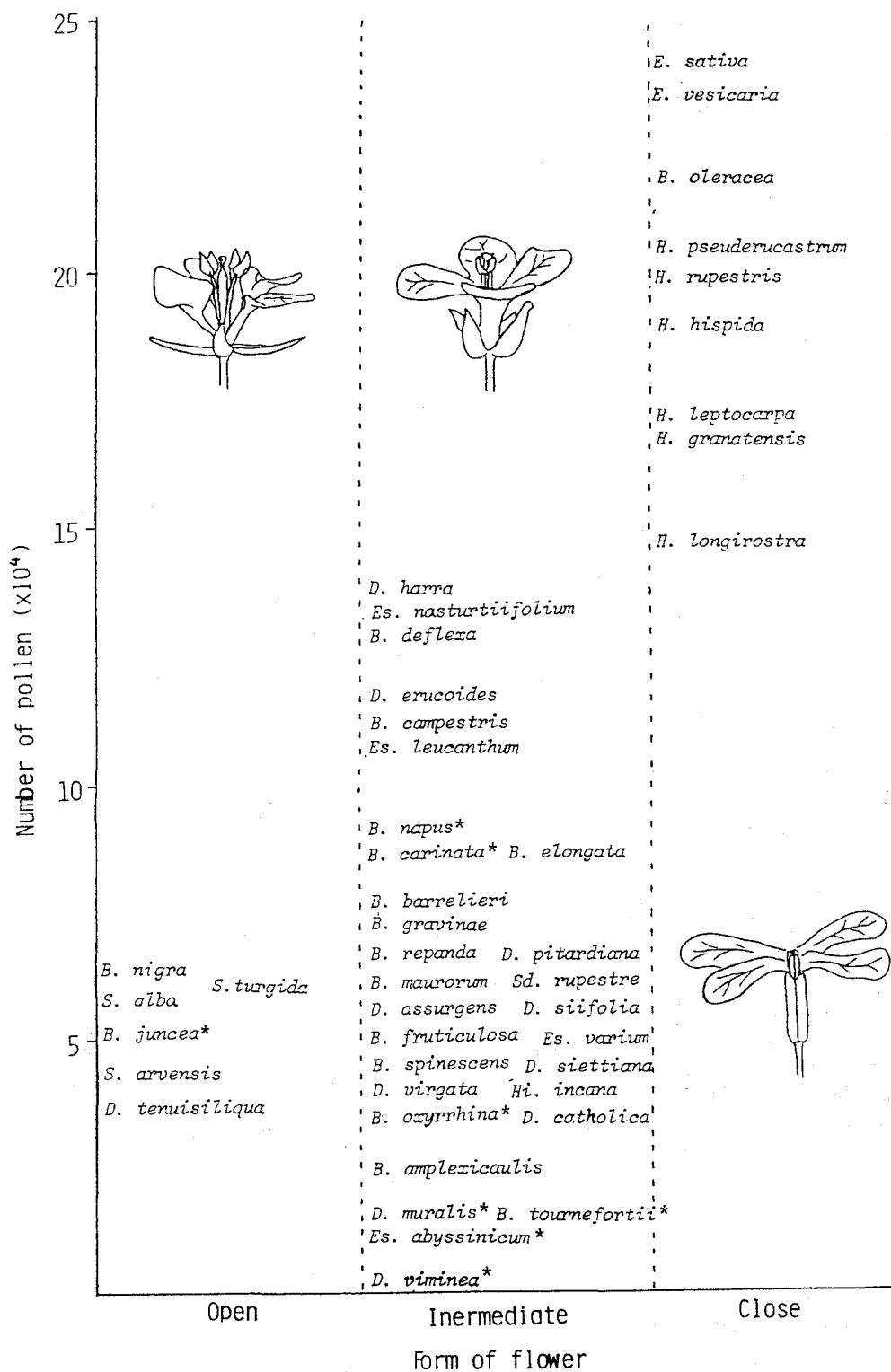


図5 Brassicaceae 亜連にみられる3種類の花の形態と1花当り花粉粒数との関係  
\*: 自殖性植物

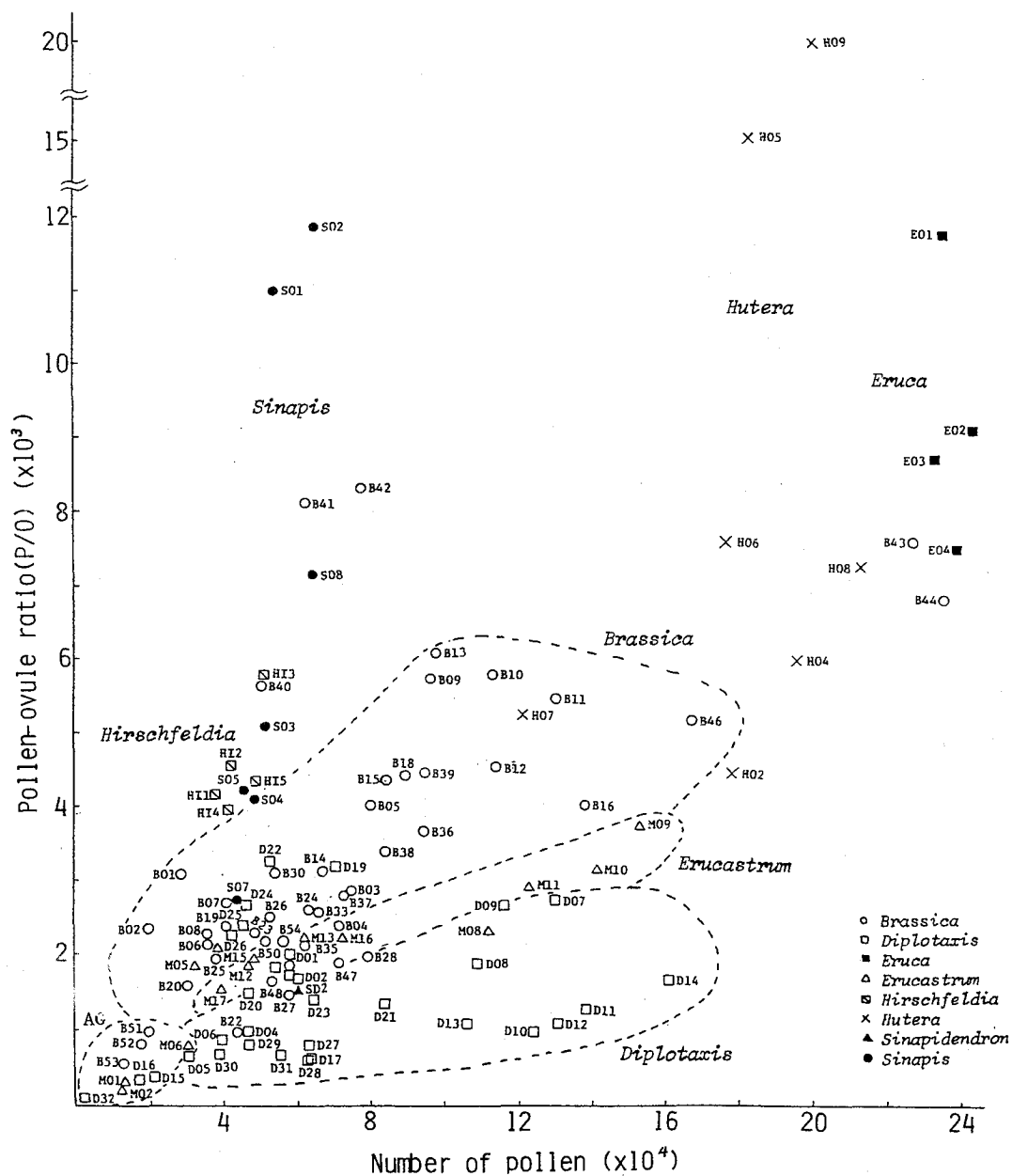


図6 1胚珠当たり花粉粒数 (pollen-ovule ratio: P/O) と1花当たり花粉粒数を指標にした *Brassicaceae* 亜連各系統の散布図  
AG: 自殖性植物 (Autogamous plant)

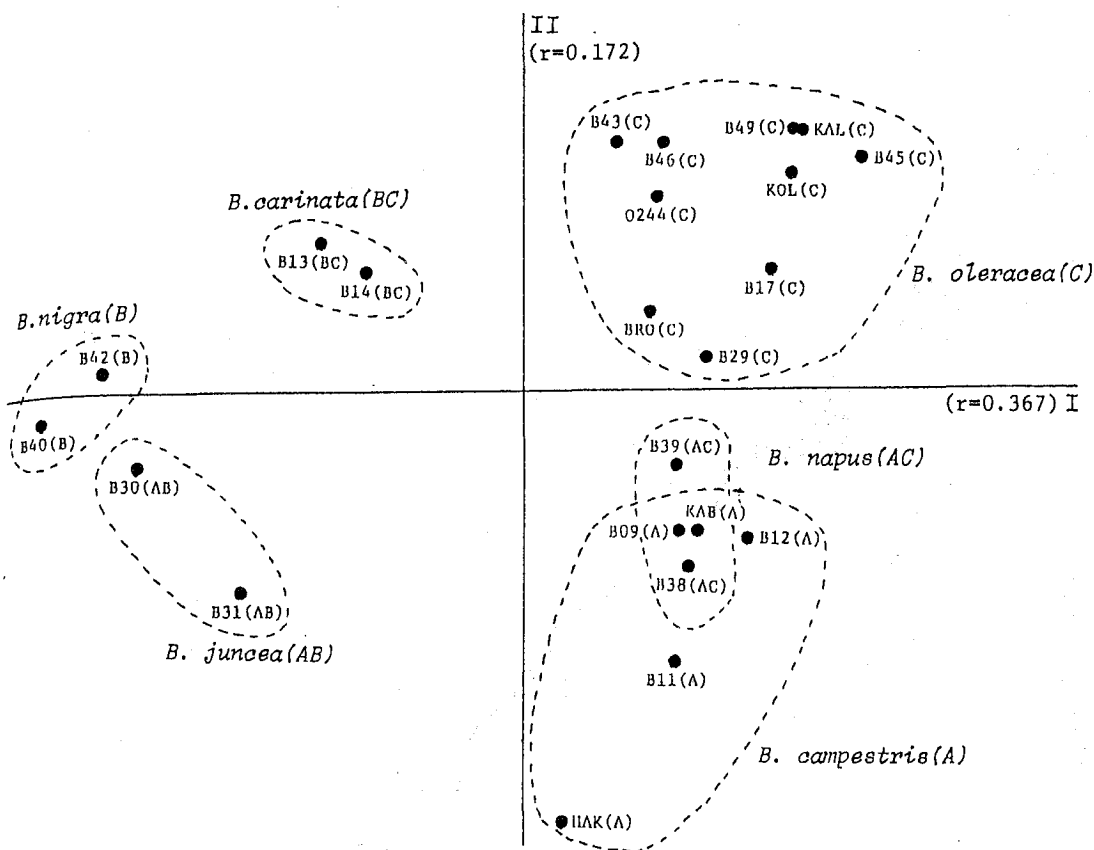


図7 パーオキシダーゼアイソザイムのザイモグラムパターンから数量化理論Ⅲ類で得られた第1, 第2 相関軸における *Brassica* 属栽培種の散佈図  
( ): ゲノム記号

表1 9種15組み合わせについて, 染色体対合, 数量形態, Fraction 1タンパク, アイソザイムの4つの異なった手法から評価した類似性の間の相関係数

Affinity index	Chromosome pairing	Fraction 1 protein	Numerical character
Fraction 1 protein	0.647**		
Numerical character	-0.591*	-0.591*	
Isozyme	0.548*	0.458	-0.389

\*\* : 1%水準で有意, \* : 5%水準で有意

表2 26種40組み合わせについて, 染色体対合, 数量形態, アイソザイムの3つの異なった手法から評価した類似性の相関係数

Affinity index	Chromosome pairing	Numerical character
Numerical character	-0.375*	
Isozyme	0.727**	-0.517**

\*\* : 1%水準で有意, \* : 5%水準で有意

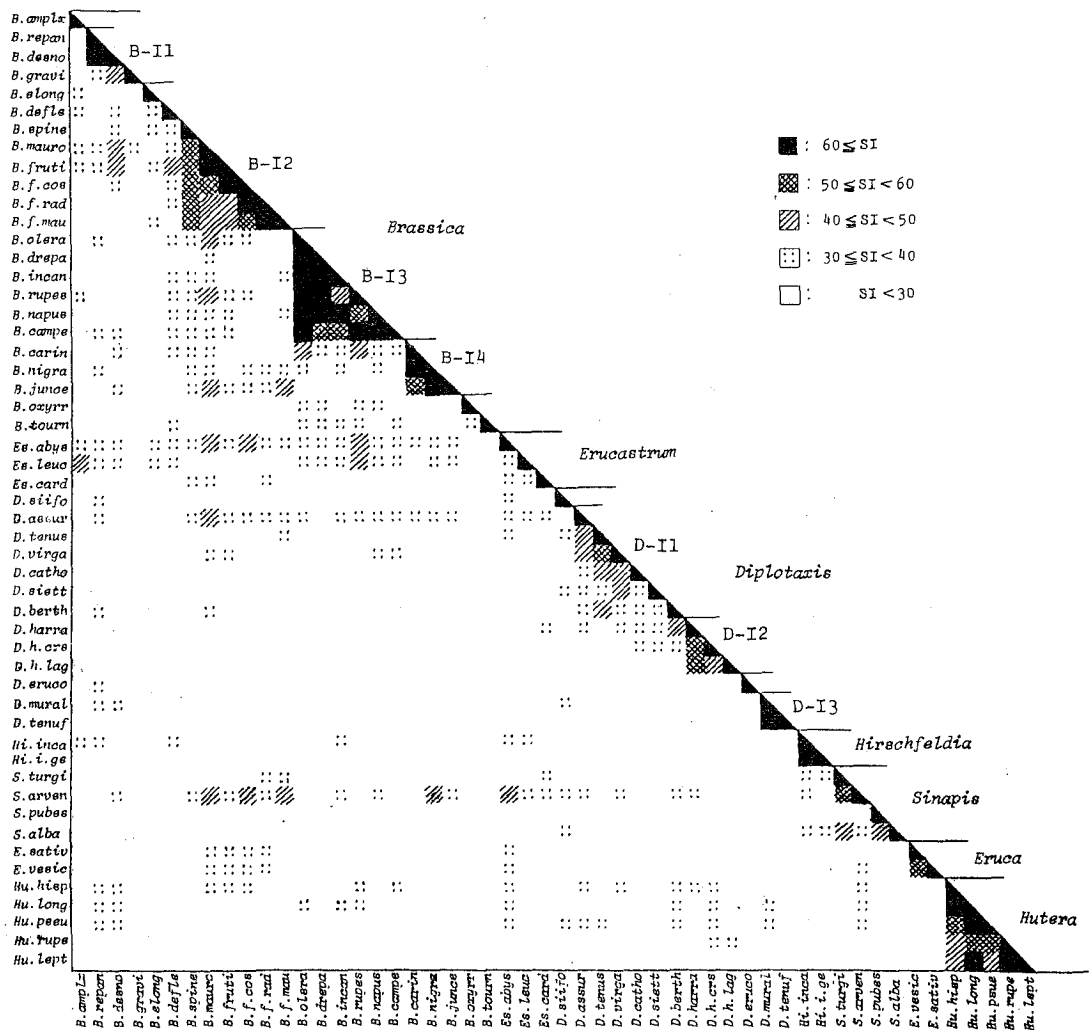


図8 パーオキシダーゼおよびエステラーゼアイソザイムのザイモグラムパターンを統合した時の各種間の類似度に基づいた *Brassicaceae* 亜連の種間の類縁関係  
 SI: 類似度 (Similarity index)

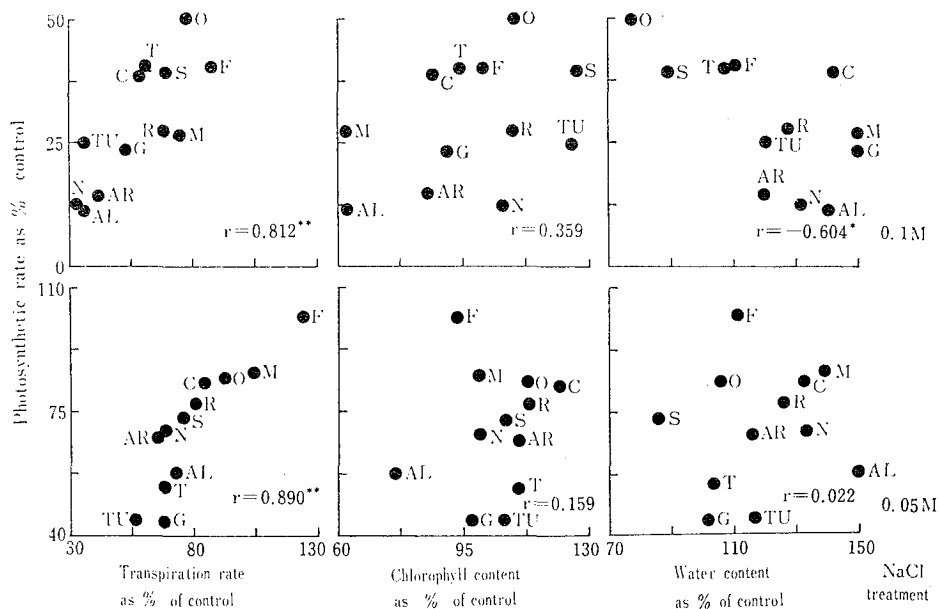


図9 NaCl 処理による葉光合成速度の変化と他の葉形質の変化との間の相関関係  
 上段：0.1 M NaCl 処理，下段：0.05 M NaCl 処理  
 F = *B. fruticulosa*, M = *B. maurorum*, S = *B. spinescens*, N = *B. nigra*, O = *B. oleracea*,  
 C = *B. campestris*, T = *B. tournefortii*, G = *B. gravinae*, TU = *S. turgida*, AR = *S. arvensis*,  
 AL = *S. alba*, R = *R. raphanistrum*.  
 \*\*: 1%水準で有意, \*: 5%水準で有意

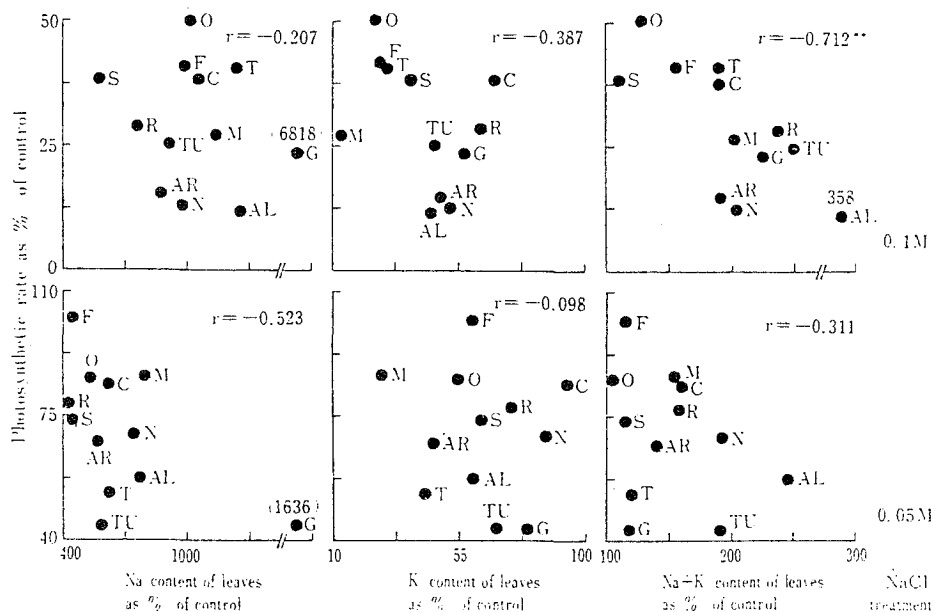


図10 NaCl 処理による葉光合成速度の変化と葉 Na, K, Na + K 含量の変化との間の相関関係  
 詳細は図9を参照

## 審 査 結 果 の 要 旨

本研究は東北大学農学部に集収されたアブラナ科アブラナ亜連 (Brassicinae) の多数の種の系統分化の様相を細胞遺伝学, 形態分類学, アイソザイム分析, 実験生態学などの手法を用いて, 明らかにしたものである。

第1に評価できる点は, 夫々の手法による解析が適確であり, この群の細胞遺伝学, 形態分類学, アイソザイム分析実験生態学に関する知見を進めていることである。たとえば細胞遺伝学の分野では, 多くの種間雑種を作出して染色体の相同性を検討しているが, うち11組合せは新しい交雑である。また, 形態分類では, 数量形態学的解析を進めて, 形態分類の補完そして系統発生の推定に役立つ新しいデーターを提出している。

第2に評価できる点は, 種々の手法による分類の相互関係について検討を加えていることである。この点では他の研究者の手によるFraction 1 タンパクによる類別も検討に入れて, いずれの見方による類縁性も似た結果を示すことを指摘している。

第3に評価できることは, この群の系統分化と生態適応との関係について検討を加えていることである。形態分化に関しては種子数と種子サイズ, 花粉粒数花器の構造などと生育・生殖戦略, 生育地の環境との関係について考察を加えている。また耐塩性については実験生態学的解析を加えている。

以上, 本研究は, アブラナ属栽培植物を含むアブラナ科アブラナ亜連の系統分化に関する知見を, 適確な解析法により, 大きく進めたものであると評価でき, 著者に対して農学博士の学位を授与して然るべきものと認めた。